

L1 ANSWER 1 OF 1 WPINDEX COPYRIGHT 2006 THE THOMSON CORP on STN

AN 1996-026421 [03] WPINDEX

DNC C1996-008580

TI DNA polymerase from a super-thermophilic archaeobacterium - is suitable for polymerase chain reaction.

DC B04 D16

PA (TOYM) TOYOBO KK

CYC 1

PI JP 07298879 A 19951114 (199603)* 20 C12N009-12 <--

JP 3132624 B2 20010205 (200110) 19 C12N009-12

ADT JP 07298879 A JP 1994-95109 19940509; JP 3132624 B2 JP 1994-95109 19940509

FDT JP 3132624 B2 Previous Publ. JP 07298879

PRAI JP 1994-95109 19940509

IC ICM C12N009-12

ICS C12N001-21; C12N015-09

ICI C12N001-21, C12R001:19; C12N009-12, C12R001:01; C12N009-12, C12R001:19;
C12N001-21, C12R001:19

AB JP 07298879 A UPAB: 19960122

A DNA polymerase (I) from a superthermophilic archaeobacterium KOD1 is new. Also claimed are: (1) an isolated DNA coding for (I); (2) an expression vector containing the DNA of (1); (3) a recombinant host cell transformed with the expression vector of (2); and (4) methods for the preparation of (I).

USE - The DNA polymerase has a high thermal stability and is suitable for PCR.

Dwg. 0/4

FS CPI

FA AB

MC CPI: B04-E02E; B04-E08; B04-F10A3E; B04-L04A0E; B12-K04A; D05-C03G;
D05-H12A; D05-H12E; D05-H14; D05-H17A3

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-298879

(43) 公開日 平成7年(1995)11月14日

| | | |
|----------------------------|---------|-------------------------------|
| (51) Int. Cl. ⁶ | 識別記号 | F I |
| C12N 9/12 | | |
| 1/21 | 8828-4B | |
| 15/09 | ZNA | |
| //(C12N 9/12 | | |
| | 9281-4B | C12N 15/00 |
| | | ZNA A |
| | 審査請求 | 未請求 請求項の数16 O L (全20頁) 最終頁に続く |

(21) 出願番号 特願平6-95109

(22) 出願日 平成6年(1994)5月9日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成5年11月10日、
社団法人日本生物工学会発行の「平成5年度日本生物工
学会大会講演要旨集」に発表

(71) 出願人 000003160

東洋紡績株式会社

大阪府大阪市北区堂島浜2丁目2番8号

(72) 発明者 今中 忠行

大阪府吹田市藤白台2-28-11

(72) 発明者 高木 昌宏

大阪府吹田市青山台1-3 C-58-207

(72) 発明者 森川 正章

大阪府箕面市小野原東5丁目4-12-406

(72) 発明者 柿原 博文

滋賀県草津市東矢倉2-19-16

(54) 【発明の名称】 超好熱始原菌由来のDNAポリメラーゼ遺伝子およびその用途

(57) 【要約】

【目的】 新規な耐熱性DNAポリメラーゼを提供する。

【構成】 超好熱始原菌であるKOD1から耐熱性DNAポリメラーゼをコードする遺伝子をクローニングし、さらに大腸菌にて発現可能な遺伝子を得て、T7プロモーターで誘導可能なプラスミドベクターに挿入し、該プラスミドベクターで大腸菌を形質転換する耐熱性DNAポリメラーゼの製造法および精製法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 超好熱始原菌 KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼ。

【請求項 2】 分子量が約 86 ～ 92 Kda であることを特徴とする請求項 1 記載の DNA ポリメラーゼ。

【請求項 3】 組換え宿主細胞を用いて生産されたことを特徴とする請求項 1 記載の DNA ポリメラーゼ。

【請求項 4】 配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列を含有することを特徴とする請求項 1 記載の DNA ポリメラーゼ。

【請求項 5】 超好熱始原菌 KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼをコードする単離された DNA。

【請求項 6】 配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列をコードする塩基配列を含有することを特徴とする請求項 5 に記載される単離された DNA。

【請求項 7】 配列番号 3 に記載される塩基配列またはその一部分を含有することを特徴とする請求項 5 に記載される単離された DNA。

【請求項 8】 請求項 5 に記載された DNA をベクターに挿入した DNA 組換え発現ベクター。

【請求項 9】 ベクターが pET-8c 由来のベクターであることを特徴とする請求項 8 記載の DNA 組換え発現ベクター (pET-pol)。

【請求項 10】 請求項 8 に記載される DNA 組換え発現 DNA ベクターを用いて形質転換された組換え宿主細胞。

【請求項 11】 宿主細胞が大腸菌であることを特徴とする請求項 8 記載の組換え宿主細胞。

【請求項 12】 請求項 10 に記載される組換え宿主細胞を培養し、培養物から DNA ポリメラーゼを採取することを特徴とする超好熱始原菌 KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼの製造法。

【請求項 13】 請求項 10 に記載される組換え宿主細胞を培養し、(a) 該組換え宿主細胞を集めた後、破碎し、細胞抽出物を調製し、(b) 組換え宿主細胞由来の不純蛋白質を除去する工程を含むことを特徴とする超好熱始原菌 KOD 1 由来 DNA ポリメラーゼを精製する方法。

【請求項 14】 組換え宿主細胞を破碎する方法が、超音波処理であることを特徴とする請求項 13 記載の超好熱始原菌 KOD 1 由来 DNA ポリメラーゼを精製する方法。

【請求項 15】 組換え宿主細胞由来の不純蛋白質を除去する工程が高温熱処理であることを特徴とする請求項 13 記載の超好熱始原菌 KOD 1 由来 DNA ポリメラーゼを精製する方法。

【請求項 16】 高温熱処理条件が、70℃以上、好ましくは 90℃以上であることを特徴とする請求項 15 記載の超好熱始原菌 KOD 1 由来 DNA ポリメラーゼを精製する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は新規な超好熱始原菌 KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼおよび該ポリメラーゼをコードする遺伝子ならびに該遺伝子を使用する DNA ポリメラーゼの製造法に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来から大腸菌のような中温性細菌由来の DNA ポリメラーゼおよび中温性細菌に感染するファージ由来の DNA ポリメラーゼに関しては、既に多くの研究がなされている。また最近、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 等の核酸増幅を用いる組換え DNA 技術に有用な耐熱性 DNA ポリメラーゼに関する研究も多くなされている。PCR 反応に用いられる耐熱性 DNA ポリメラーゼとしては、主としてサーマス・サーモフィラス (*Thermus thermophilus*) 由来の DNA ポリメラーゼ (Tth ポリメラーゼ) や、サーマス・アクアチカス (*Thermus aquaticus*) 由来の DNA ポリメラーゼ (Taq ポリメラーゼ) などが用いられてきた。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、従来知られている耐熱性 DNA ポリメラーゼには、耐熱性を有するものの、その熱安定性や、有機溶媒に対する安定性に若干、問題を残している。また、核酸の取り込みの際の正確性にも欠ける点があり、DNA 配列決定やポリメラーゼ連鎖反応にこれらの酵素を用いるに当たり、解決すべき課題が残っている。そのため、これらの欠点を解消する新規な耐熱性 DNA ポリメラーゼが待ち望まれていた。またピロコッカス・フリオサス (*Pyrococcus furiosus*) 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼ (Pfu ポリメラーゼ、W092/09689、特開平 5-328969 号公報)、サーモコッカス・リトラリス (*Thermococcus litoralis*) 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼ (Tli ポリメラーゼ、特開平 6-7160 号公報) など知られている。しかしながら、これらの熱安定性 DNA ポリメラーゼは、核酸の取り込みの際の正確性は Tag DNA ポリメラーゼや The DNA ポリメラーゼに比べ優れているが、完全なものではなく新規な耐熱性 DNA ポリメラーゼが望まれていた。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは熱安定性 DNA ポリメラーゼを生産する新規な超好熱始原菌の 1 種を得ることに成功し、さらにその遺伝子を解明して、本発明に到達した。すなわち本発明は超好熱始原菌 KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼである。

【0005】 また本発明は超好熱始原菌 KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼをコードする単離された DNA である。

【0006】 さらに本発明は超好熱始原菌 KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼをコードする単離された DNA をベクターに挿入した DNA 組換え発現ベクターである。

【0007】また本発明は超好熱始原菌KOD1由来のDNAポリメラーゼをコードする単離されたDNAをベクターに挿入したDNA組換え発現ベクターを用いて形質転換された組換え宿主細胞である。

【0008】本発明は超好熱始原菌KOD1由来のDNAポリメラーゼをコードする単離されたDNAをベクターに挿入したDNA組換え発現ベクターを用いて形質転換された組換え宿主細胞を培養し、培養物から培養物からDNAポリメラーゼを採取することを特徴とする超好熱始原菌KOD1由来のDNAポリメラーゼの製造法である。

【0009】また本発明は超好熱始原菌KOD1由来の

細胞形態
生育温度範囲
最適生育温度
生育pH範囲
最適pH
最適塩濃度
栄養要求性
酸素要求性
細胞膜脂質
DNAのGC含量

【0011】超好熱始原菌KOD1株は、直径約1 μ mの球菌であり、複数の極鞭毛を有していた。この菌株は菌学的性質からPfuDNAポリメラーゼ生産菌(*Pyrococcus furiosus*)およびTli(Vent)DNAポリメラーゼ生産菌(*Thermococcus litoralis*)との菌縁関係が示唆された。

【0012】本発明の耐熱性DNAポリメラーゼ遺伝子のクローニングは、以下の方法により行う。クローニングの方法は、PfuDNAポリメラーゼの保存領域アミノ酸配列(Nucleic Acids Research, 1993, vol.21, No. 2, 259-265)に基づき、プライマーを設計し、合成する。

【0013】まず超好熱始原菌KOD1株の染色体DNAを鋳型に、上記調製したプライマー(例、配列番号4と5)を用いてPCR反応を行い、DNA断片を増幅させる。増幅された断片のDNA配列(例、配列番号6)を決定し、当初設定したアミノ酸配列をコードしていることを確認後、該断片をプローブとし、染色体DNAの制限酵素切断産物に対し、サザンハイブリダイゼーションを実施する。目的とするDNAポリメラーゼ遺伝子を含む断片のおおよその大きさを約4~7Kbpに限定することが好ましい。

【0014】更に、約4~7KbpのDNA断片をゲルから回収し、これを用いて、大腸菌にてDNAライブラリーを作製し、上記記載のPCR増幅DNA断片(例、配列番号6)をプローブにコロニーハイブリダイゼーションを行い、クローン株を取得する。

【0015】本発明においてクローン化したKOD1株

DNAポリメラーゼをコードする単離されたDNAをベクターに挿入したDNA組換え発現ベクターを用いて形質転換された組換え宿主細胞を培養し、(a)該組換え宿主細胞を集めた後、破碎し、細胞抽出物を調製し、

(b)組換え宿主細胞由来の不純蛋白質を除去する工程を含むことを特徴とする超好熱始原菌KOD1由来DNAポリメラーゼを精製する方法である。

【0010】本発明において使用する超好熱始原菌の1種であるKOD1は、鹿児島県小宝島の硫気坑から単離した菌株である。該菌株の菌学的性質を以下に記載する。

球菌・二連鎖菌、鞭毛あり
65~100℃
95℃
5~9
6
2~3%
従属栄養
嫌気性
エーテル型
38%

のDNAポリメラーゼ遺伝子は5010塩基(推定アミノ酸1670個)から構成されている(配列番号1)。他のDNAポリメラーゼと比較したところ、本発明の遺伝子には真核生物型である α DNAポリメラーゼの保存領域、Region1~5が存在している。また該遺伝子のN末端側に3'→5'エキソヌクレアーゼモチーフであるEXO1, 2, 3が存在している。超好熱始原菌KOD1株由来の耐熱性DNAポリメラーゼ遺伝子の保存領域、Region1, 2内には、各々介在配列が存在しており、かつオープンリーディングフレーム(ORF)の保存された形でつながっている。

【0016】超好熱始原菌KOD1株の耐熱性DNAポリメラーゼ遺伝子を、既知酵素であるピロコッカス・フリオサス(*Pyrococcus furiosus*)由来のPfuDNAポリメラーゼ遺伝子(特開平 5-328969号公報)、及びサーモコッカス・リトラリス(*Thermococcus litoralis*)由来のTli(Vent)DNAポリメラーゼ遺伝子(特開平 6-7160号公報)と比較すると、本発明のKOD1株の遺伝子には介在配列が存在するが、上記PfuDNAポリメラーゼの遺伝子には介在配列は存在せず、またTliDNAポリメラーゼ遺伝子には、2種の介在配列が存在するものの、その存在箇所は各々保存領域であるRegion2, 3の内であり、本発明のKOD1株の耐熱性DNAポリメラーゼ遺伝子内の介在配列の存在箇所とは大きく異なっている(図4参照)。

【0017】本発明の遺伝子は超好熱始原菌KOD1由来のDNAポリメラーゼをコードするDNAである。該DNAの一例は配列番号1または2に記載されるアミノ

酸配列をコードする塩基配列を含有する。また、このようなDNAは配列番号1または3に記載される塩基配列またはその一部分を含有する。本発明の超好熱始原菌KOD1株由来の耐熱性DNAポリメラーゼを大腸菌で発現させるため、配列番号1に示される塩基配列の1374~2453bp、2708~4316bpの介在配列をPCR遺伝子融合法により取り除き、完全な形のDNAポリメラーゼ遺伝子を構築する。具体的には、介在配列を含むクローン化した遺伝子を3組のプライマーの組み合わせによりPCR反応を行い、介在配列により分断される3断片を増幅する。ここで使用するプライマーを設計する際、その末端に結合すべき断片の一部をその5'端に含ませておく。次いで、結合すべき断片同志を用いてその末端の重複する配列を利用してPCR反応を行い、各々断片を結合する。更に得られた2種の断片を用い同様にPCR反応を行い、介在配列を含まないKOD1株由来のDNAポリメラーゼ遺伝子を含まない、完全な形のDNAポリメラーゼ遺伝子を得る。

【0018】本発明において使用するベクターは、KOD1由来の耐熱性DNAポリメラーゼのクローニングおよび発現を可能とするものであれば、いかなるものでもよく、例えばファージおよびプラスミドが挙げられる。プラスミドとしては、T7プロモーターで誘導発現が可能なプラスミドベクター、例えばpET-8cなどを挙げる事ができる。また別なプラスミドの例としては、pUC19、pBR322、pBluescript、pSP73、pGW7、pET3A、pET11Cなどがある。ファージとしては、たとえばλgt11、λDASH、λZapIなどが挙げられる。本発明において使用する宿主細胞としては、大腸菌、酵母などが挙げられる。大腸菌としては、例えばJM109、101、XL1、PR1、BL21(DE3)plysSなどが挙げられる。本発明では上記KOD1由来の耐熱性DNAポリメラーゼをコードする遺伝子を上記ベクターに挿入して組換え発現ベクターとし、更に、この組換え発現ベクターにて宿主細胞を形質転換する。

【0019】本発明の製造法では、上記組換え宿主細胞を培養して、KOD1株由来の耐熱性DNAポリメラーゼ遺伝子を誘導発現させる。組換え宿主細胞の培養に使用する培地ならびに条件は常法に従う。具体例としては、KOD1株由来の介在配列を含まない完全な形のDNAポリメラーゼ遺伝子を含むpET-8cプラスミドにより形質転換された大腸菌を、例えばTB培地にて培養し、誘導処理する。T7プロモーターの誘導処理はイソプロピオチン-β-D-ガラクトシドの添加により行なうことが好ましい。

【0020】本発明の精製法では、組換え宿主細胞を培養した後、(a)組換え宿主細胞を集めた後、破碎し、細胞抽出物を調製し、(b)宿主細胞由来の不純蛋白質を除去する工程を含む。組換え宿主細胞より産出された

耐熱性DNAポリメラーゼは、宿主菌体を培地で培養・誘導処理後、培養液から遠心分離等にて分離・回収する。該菌体を緩衝液に再懸濁した後、超音波処理、ダイノミル・フレンチプレス等により菌体を破碎する。次いで、熱処理を実施し、上清より耐熱性DNAポリメラーゼを回収する。菌体破碎方法は、超音波処理、ダイノミル・フレンチプレス法などが好ましい。宿主細胞由来の不純タンパク質を除去する工程の1つとして、熱処理が好ましい。熱処理条件は70℃以上、好ましくは90℃以上である。他の不純タンパク質の除去法としては各種クロマトグラフィーなどを実施する。

【0021】この様にして取得した超好熱始原菌KOD1株由来の耐熱性DNAポリメラーゼの分子量は、約90kDaである(図2参照)。

【0022】また、この耐熱性DNAポリメラーゼを用いポリメラーゼ連鎖反応を実施すると、十分な目的DNA断片の増幅が確認される(図3参照)。

【0023】

【発明の効果】本発明により取得される超好熱始原菌由来のDNAポリメラーゼは、高い熱安定性を有し、ポリメラーゼ連鎖反応等に適した酵素である。

【0024】

【実施例】次に本発明を実施例を用いて説明する。

実施例1

超好熱始原菌KOD1株由来DNAポリメラーゼ遺伝子のクローニング

鹿児島県小宝島にて単離した超好熱始原菌KOD1株を95℃にて培養後、菌体を回収した。得られた菌体から常法に従い超好熱始原菌KOD1株の染色体DNAを調製した。Pyrococcus furiosus 由来のDNAポリメラーゼ(Pfuポリメラーゼ)の保存領域アミノ酸配列に基づき、2種のプライマー(5'-GGATTAGTATAGTCCCAATGGAA GCGAC-3'(配列番号4)、5'-GAGGCGCAAGTTTATTCGAGCTT-3'(配列番号5))を合成した。この2種のプライマーを使用し、調製した染色体DNAを鋳型として、PCR反応を行った。

【0025】PCR増幅DNA断片の塩基配列(配列番号6)を決定し、アミノ酸配列(配列番号7)を決定した後、この増幅DNA断片をプローブとして、KOD1株染色体DNA制限酵素処理産物に対してサザンハイブリダイゼーションを行い、DNAポリメラーゼをコードする断片のサイズを求めた(約4~7kbp)。さらに、この大きさのDNA断片をアガロースゲルから回収し、プラスミドpBS(ストラタジーン社製)に挿入し、これらの混合物により大腸菌(E.coli JM109)を形質転換して、ライブラリーを作製した。サザンハイブリダイゼーションに使用したプローブ(配列番号6)を用いて、コロニーハイブリダイゼーションを行い、上記ライブラリーから、KOD1株由来のDNAポリメラーゼ遺伝子を含有すると考えられるクローン株(E.coli JM109/

pBSKOD1)を取得した。

【 0 0 2 6 】 実施例 2

クローン断片の塩基配列の決定

実施例 1 で取得したクローン株、E. coli JM109/pBSKOD1 よりプラスミド、BSKOD1 を回収し、常法に従い塩基配列 (配列番号 1) を決定した。さらに求められた塩基配列からアミノ酸配列を推定した。KOD 1 株由来の DNA ポリメラーゼ遺伝子は 5 0 1 0 塩基からなり、1 6 7 0 個のアミノ酸がコードされていた。

【 0 0 2 7 】 実施例 3

組換え発現ベクターの構築

完全なポリメラーゼ遺伝子を作成するため、2 箇所の介在配列部分 (1 3 7 4 ~ 2 4 5 3 b p、2 7 0 8 ~ 4 3 1 6 b p) を PCR 融合法により取り除いた。PCR 融合法では、クローン株より回収したプラスミドを鋳型に、3 組のプライマー (配列番号 8 ~ 1 3) を組み合わせ、各々 PCR を行い、介在配列を除いた 3 断片を増幅した。この際、PCR に用いるプライマーは、他の断片と結合する側に結合相手と同様な配列がくるように設計した。また、両端には別々の制限酵素サイト (N 末端側: E c o R V、C 末端側: B a m H I) が創出されるように設計した。次いで、PCR 増幅断片中、構造上中央に位置する断片と、N 末端側に位置する断片を混合し、PCR を各々の断片をプライマーとして行った。また、同様に構造上、中央に位置する断片と、C 末端側に位置する断片を混合し、PCR を各々の断片をプライマーとして行った。このようにして得られた 2 種の断片を用いて再度 PCR を行い、介在配列が取り除かれ、N 末端に E c o R V、C 末端に B a m H I サイトを有する KOD 1 株由来の DNA ポリメラーゼをコードする完全な形の遺伝子断片を取得した。更に、同遺伝子を T 7 プロモーターで誘導可能な発現ベクター、p E T - 8 c の N c o I / B a m H I サイト、先に創出した制限酵素サイトを利用し、サブクローニングして、組換え発現ベクター (p E T - p o l) を得た。

【 0 0 2 8 】 実施例 4

KOD 1 由来 DNA ポリメラーゼの発現と精製

実施例 3 で取得した組換え発現ベクター (p E T - p o l) を用いて大腸菌 (E. coli JM109) を形質転換し、得られた形質転換体を T B 培地 (Molecular Cloning, p. A. 2, 1989 に記載) で培養し、集菌 1 時間前に T 7 プロモーターの誘導処理をイソプロピオチン β-D- ガラクトシドの添加により行った。培養液より菌体を遠心分離により回収した。緩衝液に再懸濁した後、超音波処理によって菌体を破碎し、細胞抽出物を得た。さらに宿主細胞由来の不純タンパク質を除去するために、細胞破碎液を 9 4 °C にて 2 0 分間処理し、宿主細胞由来の不純タンパク質を不溶化した。不溶画分を遠心分離して除去し、KOD 1 株由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼを得た。

【 0 0 2 9 】 実施例 5

KOD 1 由来耐熱性 DNA ポリメラーゼの精製

実施例 4 で得られた KOD 1 由来耐熱性 DNA ポリメラーゼの分子量を SDS - P A G E 法によって求めたところ、約 8 6 ~ 9 2 k D a であった (図 2)。また、実施例 4 で得た KOD 1 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼと既知の鋳型・プライマーを用いて PCR を実施したところ、サーモコッカス・リトラリス (Thermococcus litoralis) 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼを用いた場合と同様に標的とする DNA 断片が確認され (図 3)、高い熱安定性 DNA ポリメラーゼ活性が確認された。

【 0 0 3 0 】 比較例 1

本発明の超好熱始原菌 KOD 1 と類縁菌であると思われるピロコッカス・フリオサス (Pyrococcus furiosus) またはサーモコッカス・リトラリス (Thermococcus litoralis) 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼ遺伝子との比較。本発明の超好熱始原菌 KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼ遺伝子 (配列番号 3)、ピロコッカス・フリオサス (Pyrococcus furiosus) 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼ遺伝子 (特開平 5-328969 号公報)、サーモコッカス・リトラリス (Thermococcus litoralis) 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼ遺伝子 (特開平 6-7160 号公報) の DNA 配列からアミノ酸配列を推定し、比較検討した。本発明の KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼは、真核生物型である α DNA ポリメラーゼの保存領域である Region 1 ~ 5 が存在していた。また N 末端側には 3' → 5' エキシヌクレアーゼモチーフである EXO 1, 2, 3 が存在していた。しかし、α DNA ポリメラーゼ保存領域 Region 1 と Region 2 の内には、各々介在配列 I V S - A、I V S - B が存在していた (図 4 参照)。一方、ピロコッカス・フリオサス (Pyrococcus furiosus) 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼである P f u ポリメラーゼには介在配列が存在しなかった。またサーモコッカス・リトラリス (Thermococcus litoralis) 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼである V e n t ポリメラーゼでは、α DNA ポリメラーゼ保存領域 Region 2 と Region 3 の内に、介在配列 I V S 1 と I V S 2 が認められた (図 4 参照)。

【 0 0 3 1 】

【配列表】

配列番号 1

配列の長さ: 5342

配列の型: 核酸 (DNA)

鎖の数: 2 本鎖

トロポジ: 直鎖状

配列の種類: c DNA

起源: 超好熱始原菌

株名: KOD 1

配列の特徴

156-5165 P CDS

50 1374-2453 介在配列

2708-4316 介在配列

配列

| | |
|---|-----|
| GCTTGAGGGC CTGCGGTTAT GGGACGTTGC AGTTTGCGCC TACTCAAAGA TGCCGGTTTT | 60 |
| ATAACGGAGA AAAATGGGGA GCTATTACGA TCTCTCCTTG ATGTGGGGTT TACAATAAAG | 120 |
| CCTGGATTGT TCTACAAGAT TATGGGGGAT GAAAG ATG ATC CTC GAC ACT GAC | 173 |
| Met Ile Leu Asp Thr Asp | |
| 1 5 | |
| TAC ATA ACC GAG GAT GGA AAG CCT GTC ATA AGA ATT TTC AAG AAG GAA | 221 |
| Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys Pro Val Ile Arg Ile Phe Lys Lys Glu | |
| 10 15 20 | |
| AAC GGC GAG TTT AAG ATT GAG TAC GAC CGG ACT TTT GAA CCC TAC TTC | 269 |
| Asn Gly Glu Phe Lys Ile Glu Tyr Asp Arg Thr Phe Glu Pro Tyr Phe | |
| 25 30 35 | |
| TAC GCC CTC CTG AAG GAC GAT TCT GCC ATT GAG GAA GTC AAG AAG ATA | 317 |
| Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile Glu Glu Val Lys Lys Ile | |
| 40 45 50 | |
| ACC GCC GAG AGG CAC GGG ACG GTT GTA ACG GTT AAG CGG GTT GAA AAG | 365 |
| Thr Ala Glu Arg His Gly Thr Val Val Thr Val Lys Arg Val Glu Lys | |
| 55 60 65 70 | |
| GTT CAG AAG AAG TTC CTC GGG AGA CCA GTT GAG GTC TGG AAA CTC TAC | 413 |
| Val Gln Lys Lys Phe Leu Gly Arg Pro Val Glu Val Trp Lys Leu Tyr | |
| 75 80 85 | |
| TTT ACT CAT CCG CAG GAC GTC CCA GCG ATA AGG GAC AAG ATA CGA GAG | 461 |
| Phe Thr His Pro Gln Asp Val Pro Ala Ile Arg Asp Lys Ile Arg Glu | |
| 90 95 100 | |
| CAT GGA GCA GTT ATT GAC ATC TAC GAG TAC GAC ATA CCC TTC GCC AAG | 509 |
| His Gly Ala Val Ile Asp Ile Tyr Glu Tyr Asp Ile Pro Phe Ala Lys | |
| 105 110 115 | |
| CGC TAC CTC ATA GAC AAG GGA TTA GTG CCA ATG GAA GGC GAC GAG GAG | 557 |
| Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Val Pro Met Glu Gly Asp Glu Glu | |
| 120 125 130 | |
| CTG AAA ATG CTC GCC TTC GAC ATT CAA ACT CTC TAC CAT GAG GGC GAG | 605 |
| Leu Lys Met Leu Ala Phe Asp Ile Gln Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu | |
| 135 140 145 150 | |
| GAG TTC GCC GAG GGG CCA ATC CTT ATG ATA AGC TAC GCC GAC GAG GAA | 653 |
| Glu Phe Ala Glu Gly Pro Ile Leu Met Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Glu | |
| 155 160 165 | |
| GGG GCC AGG GTG ATA ACT TGG AAG AAC GTG GAT CTC CCC TAC GTT GAC | 701 |
| Gly Ala Arg Val Ile Thr Trp Lys Asn Val Asp Leu Pro Tyr Val Asp | |
| 170 175 180 | |
| GTC GTC TCG ACG GAG AGG GAG ATG ATA AAG CGC TTC CTC CGT GTT GTG | 749 |
| Val Val Ser Thr Glu Arg Glu Met Ile Lys Arg Phe Leu Arg Val Val | |
| 185 190 195 | |
| AAG GAG AAA GAC CCG GAC GTT CTC ATA ACC TAC AAC GGC GAC AAC TTC | 797 |
| Lys Glu Lys Asp Pro Asp Val Leu Ile Thr Tyr Asn Gly Asp Asn Phe | |
| 200 205 210 | |
| GAC TTC GCC TAT CTG AAA AAG CGC TGT GAA AAG CTC GGA ATA AAC TTC | 845 |
| Asp Phe Ala Tyr Leu Lys Lys Arg Cys Glu Lys Leu Gly Ile Asn Phe | |
| 215 220 225 230 | |
| GCC CTC GGA AGG GAT GGA AGC GAG CCG AAG ATT CAG AGG ATG GGC GAC | 893 |

| 11 | | 12 |
|---|-----|------|
| Ala Leu Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro Lys Ile Gln Arg Met Gly Asp | | |
| 235 | 240 | 245 |
| AGG TTT GCC GTC GAA GTG AAG GGA CGG ATA CAC TTC GAT CTC TAT CCT | | 941 |
| Arg Phe Ala Val Glu Val Lys Gly Arg Ile His Phe Asp Leu Tyr Pro | | |
| 250 | 255 | 260 |
| GTG ATA AGA CGG ACG ATA AAC CTG CCC ACA TAC ACG CTT GAG GCC GTT | | 989 |
| Val Ile Arg Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr Tyr Thr Leu Glu Ala Val | | |
| 265 | 270 | 275 |
| TAT GAA GCC GTC TTC GGT CAG CCG AAG GAG AAG GTT TAC GCT GAG GAA | | 1037 |
| Tyr Glu Ala Val Phe Gly Gln Pro Lys Glu Lys Val Tyr Ala Glu Glu | | |
| 280 | 285 | 290 |
| ATA ACA CCA GCC TGG GAA ACC GGC GAG AAC CTT GAG AGA GTC GCC CGC | | 1085 |
| Ile Thr Pro Ala Trp Glu Thr Gly Glu Asn Leu Glu Arg Val Ala Arg | | |
| 295 | 300 | 305 |
| TAC TCG ATG GAA GAT GCG AAG GTC ACA TAC GAG CTT GGG AAG GAG TTC | | 1133 |
| Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Val Thr Tyr Glu Leu Gly Lys Glu Phe | | |
| 315 | 320 | 325 |
| CTT CCG ATG GAG GCC CAG CTT TCT CGC TTA ATC GGC CAG TCC CTC TGG | | 1181 |
| Leu Pro Met Glu Ala Gln Leu Ser Arg Leu Ile Gly Gln Ser Leu Trp | | |
| 330 | 335 | 340 |
| GAC GTC TCC CGC TCC AGC ACT GGC AAC CTC GTT GAG TGG TTC CTC CTC | | 1229 |
| Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn Leu Val Glu Trp Phe Leu Leu | | |
| 345 | 350 | 355 |
| AGG AAG GCC TAT GAG AGG AAT GAG CTG GCC CCG AAC AAG CCC GAT GAA | | 1277 |
| Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Leu Ala Pro Asn Lys Pro Asp Glu | | |
| 360 | 365 | 370 |
| AAG GAG CTG GCC AGA AGA CGG CAG AGC TAT GAA GGA GGC TAT GTA AAA | | 1325 |
| Lys Glu Leu Ala Arg Arg Arg Gln Ser Tyr Glu Gly Gly Tyr Val Lys | | |
| 375 | 380 | 385 |
| GAG CCC GAG AGA GGG TTG TGG GAG AAC ATA GTG TAC CTA GAT TTT AGA | | 1373 |
| Glu Pro Glu Arg Gly Leu Trp Glu Asn Ile Val Tyr Leu Asp Phe Arg | | |
| 395 | 400 | 405 |
| TGC CAT CCA GCC GAT ACG AAG GTT GTC GTC AAG GGG AAG GGG ATT ATA | | 1421 |
| Cys His Pro Ala Asp Thr Lys Val Val Val Lys Gly Lys Gly Ile Ile | | |
| 410 | 415 | 420 |
| AAC ATC AGC GAG GTT CAG GAA GGT GAC TAT GTC CTT GGG ATT GAC GGC | | 1469 |
| Asn Ile Ser Glu Val Gln Glu Gly Asp Tyr Val Leu Gly Ile Asp Gly | | |
| 425 | 430 | 435 |
| TGG CAG AGA GTT AGA AAA GTA TGG GAA TAC GAC TAC AAA GGG GAG CTT | | 1517 |
| Trp Gln Arg Val Arg Lys Val Trp Glu Tyr Asp Tyr Lys Gly Glu Leu | | |
| 440 | 445 | 450 |
| GTA AAC ATA AAC GGG TTA AAG TGT ACG CCC AAT CAT AAG CTT CCC GTT | | 1565 |
| Val Asn Ile Asn Gly Leu Lys Cys Thr Pro Asn His Lys Leu Pro Val | | |
| 455 | 460 | 465 |
| GTT ACA AAG AAC GAA CGA CAA ACG AGA ATA AGA GAC AGT CTT GCT AAG | | 1613 |
| Val Thr Lys Asn Glu Arg Gln Thr Arg Ile Arg Asp Ser Leu Ala Lys | | |
| 475 | 480 | 485 |
| TCT TTC CTT ACT AAA AAA GTT AAG GGC AAG ATA ATA ACC ACT CCC CTT | | 1661 |
| Ser Phe Leu Thr Lys Lys Val Lys Gly Lys Ile Ile Thr Thr Pro Leu | | |
| 490 | 495 | 500 |

| 13 | 14 |
|---|------|
| TTC TAT GAA ATA GGC AGA GCG ACA AGT GAG AAT ATT CCA GAA GAA GAG | 1709 |
| Phe Tyr Glu Ile Gly Arg Ala Thr Ser Glu Asn Ile Pro Glu Glu Glu | |
| 505 510 515 | |
| GTT CTC AAG GGA GAG CTC GCT GGC ATA CTA TTG GCT GAA GGA ACG CTC | 1757 |
| Val Leu Lys Gly Glu Leu Ala Gly Ile Leu Leu Ala Glu Gly Thr Leu | |
| 520 525 530 | |
| TTG AGG AAA GAC GTT GAA TAC TTT GAT TCA TCC CGC AAA AAA CGG AGG | 1805 |
| Leu Arg Lys Asp Val Glu Tyr Phe Asp Ser Ser Arg Lys Lys Arg Arg | |
| 535 540 545 550 | |
| ATT TCA CAC CAG TAT CGT GTT GAG ATA ACC ATT GGG AAA GAC GAG GAG | 1853 |
| Ile Ser His Gln Tyr Arg Val Glu Ile Thr Ile Gly Lys Asp Glu Glu | |
| 555 560 565 | |
| GAG TTT AGG GAT CGT ATC ACA TAC ATT TTT GAG CGT TTG TTT GGG ATT | 1901 |
| Glu Phe Arg Asp Arg Ile Thr Tyr Ile Phe Glu Arg Leu Phe Gly Ile | |
| 570 575 580 | |
| ACT CCA AGC ATC TCG GAG AAG AAA GGA ACT AAC GCA GTA ACA CTC AAA | 1949 |
| Thr Pro Ser Ile Ser Glu Lys Lys Gly Thr Asn Ala Val Thr Leu Lys | |
| 585 590 595 | |
| GTT GCG AAG AAG AAT GTT TAT CTT AAA GTC AAG GAA ATT ATG GAC AAC | 1997 |
| Val Ala Lys Lys Asn Val Tyr Leu Lys Val Lys Glu Ile Met Asp Asn | |
| 600 605 610 | |
| ATA GAG TCC CTA CAT GCC CCC TCG GTT CTC AGG GGA TTC TTC GAA GGC | 2045 |
| Ile Glu Ser Leu His Ala Pro Ser Val Leu Arg Gly Phe Phe Glu Gly | |
| 615 620 625 630 | |
| GAC GGT TCA GTA AAC AGG GTT AGG AGG AGT ATT GTT GCA ACC CAG GGT | 2093 |
| Asp Gly Ser Val Asn Arg Val Arg Arg Ser Ile Val Ala Thr Gln Gly | |
| 635 640 645 | |
| ACA AAG AAC GAG TGG AAG ATT AAA CTG GTG TCA AAA CTG CTC TCC CAG | 2141 |
| Thr Lys Asn Glu Trp Lys Ile Lys Leu Val Ser Lys Leu Leu Ser Gln | |
| 650 655 660 | |
| CTT GGT ATC CCT CAT CAA ACG TAC ACG TAT CAG TAT CAG GAA AAT GGG | 2189 |
| Leu Gly Ile Pro His Gln Thr Tyr Thr Tyr Gln Tyr Gln Glu Asn Gly | |
| 665 670 675 | |
| AAA GAT CGG AGC AGG TAT ATA CTG GAG ATA ACT GGA AAG GAC GGA TTG | 2237 |
| Lys Asp Arg Ser Arg Tyr Ile Leu Glu Ile Thr Gly Lys Asp Gly Leu | |
| 680 685 690 | |
| ATA CTG TTC CAA ACA CTC ATT GGA TTC ATC AGT GAA AGA AAG AAC GCT | 2285 |
| Ile Leu Phe Gln Thr Leu Ile Gly Phe Ile Ser Glu Arg Lys Asn Ala | |
| 695 700 705 710 | |
| CTG CTT AAT AAG GCA ATA TCT CAG AGG GAA ATG AAC AAC TTG GAA AAC | 2333 |
| Leu Leu Asn Lys Ala Ile Ser Gln Arg Glu Met Asn Asn Leu Glu Asn | |
| 715 720 725 | |
| AAT GGA TTT TAC AGG CTC AGT GAA TTC AAT GTC AGC ACG GAA TAC TAT | 2381 |
| Asn Gly Phe Tyr Arg Leu Ser Glu Phe Asn Val Ser Thr Glu Tyr Tyr | |
| 730 735 740 | |
| GAG GGC AAG GTC TAT GAC TTA ACT CTT GAA GGA ACT CCC TAC TAC TTT | 2429 |
| Glu Gly Lys Val Tyr Asp Leu Thr Leu Glu Gly Thr Pro Tyr Tyr Phe | |
| 745 750 755 | |
| GCC AAT GGC ATA TTG ACC CAT AAC TCC CTG TAC CCC TCA ATC ATC ATC | 2477 |
| Ala Asn Gly Ile Leu Thr His Asn Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile | |

| 15 | 16 |
|---|------|
| 760 | 765 |
| ACC CAC AAC GTC TCG CCG GAT ACG CTC AAC AGA GAA GGA TGC AAG GAA | 2525 |
| Thr His Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Arg Glu Gly Cys Lys Glu | |
| 775 | 780 |
| TAT GAC GTT GCC CCA CAG GTC GGC CAC CGC TTC TGC AAG GAC TTC CCA | 2573 |
| Tyr Asp Val Ala Pro Gln Val Gly His Arg Phe Cys Lys Asp Phe Pro | |
| 795 | 800 |
| GGA TTT ATC CCG AGC CTG CTT GGA GAC CTC CTA GAG GAG AGG CAG AAG | 2621 |
| Gly Phe Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg Gln Lys | |
| 810 | 815 |
| ATA AAG AAG AAG ATG AAG GCC ACG ATT GAC CCG ATC GAG AGG AAG CTC | 2669 |
| Ile Lys Lys Lys Met Lys Ala Thr Ile Asp Pro Ile Glu Arg Lys Leu | |
| 825 | 830 |
| CTC GAT TAC AGG CAG AGG GCC ATC AAG ATC CTG GCA AAC AGC ATC CTA | 2717 |
| Leu Asp Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser Ile Leu | |
| 840 | 845 |
| CCC GAG GAA TGG CTT CCA GTC CTC GAG GAA GGG GAG GTT CAC TTC GTC | 2765 |
| Pro Glu Glu Trp Leu Pro Val Leu Glu Glu Gly Glu Val His Phe Val | |
| 855 | 860 |
| AGG ATT GGA GAG CTC ATA GAC CGG ATG ATG GAG GAA AAT GCT GGG AAA | 2813 |
| Arg Ile Gly Glu Leu Ile Asp Arg Met Met Glu Glu Asn Ala Gly Lys | |
| 875 | 880 |
| GTA AAG AGA GAG GGC GAG ACG GAA GTG CTT GAG GTC AGT GGG CTT GAA | 2861 |
| Val Lys Arg Glu Gly Glu Thr Glu Val Leu Glu Val Ser Gly Leu Glu | |
| 890 | 895 |
| GTC CCG TCC TTT AAC AGG AGA ACT AAC AAG GCC GAG CTC AAG AGA GTA | 2909 |
| Val Pro Ser Phe Asn Arg Arg Thr Asn Lys Ala Glu Leu Lys Arg Val | |
| 905 | 910 |
| AAG GCC CTG ATT AGG CAC GAT TAT TCT GGC AAG GTC TAC ACC ATC AGA | 2957 |
| Lys Ala Leu Ile Arg His Asp Tyr Ser Gly Lys Val Tyr Thr Ile Arg | |
| 920 | 925 |
| CTG AAG TCG GGG AGG AGA ATA AAG ATA ACC TCT GGC CAC AGC CTC TTC | 3005 |
| Leu Lys Ser Gly Arg Arg Ile Lys Ile Thr Ser Gly His Ser Leu Phe | |
| 935 | 940 |
| TCT GTG AGA AAC GGG GAG CTC GTT GAA GTT ACG GGC GAT GAA CTA AAG | 3053 |
| Ser Val Arg Asn Gly Glu Leu Val Glu Val Thr Gly Asp Glu Leu Lys | |
| 955 | 960 |
| CCA GGT GAC CTC GTT GCA GTC CCG CGG AGA TTG GAG CTT CCT GAG AGA | 3101 |
| Pro Gly Asp Leu Val Ala Val Pro Arg Arg Leu Glu Leu Pro Glu Arg | |
| 970 | 975 |
| AAC CAC GTG CTG AAC CTC GTT GAA CTG CTC CTT GGA ACG CCA GAA GAA | 3149 |
| Asn His Val Leu Asn Leu Val Glu Leu Leu Leu Gly Thr Pro Glu Glu | |
| 985 | 990 |
| GAA ACT TTG GAC ATC GTC ATG ACG ATC CCA GTC AAG GGT AAG AAG AAC | 3197 |
| Glu Thr Leu Asp Ile Val Met Thr Ile Pro Val Lys Gly Lys Lys Asn | |
| 1000 | 1005 |
| TTC TTT AAA GGG ATG CTC AGG ACT TTG CGC TGG ATT TTC GGA GAG GAA | 3245 |
| Phe Phe Lys Gly Met Leu Arg Thr Leu Arg Trp Ile Phe Gly Glu Glu | |
| 1015 | 1020 |
| AAG AGG CCC AGA ACC GCG AGA CGC TAT CTC AGG CAC CTT GAG GAT CTG | 3293 |

| 17 | | 18 |
|---|------|------|
| Lys Arg Pro Arg Thr Ala Arg Arg Tyr Leu Arg His Leu Glu Asp Leu | | |
| 1035 | 1040 | 1045 |
| GGC TAT GTC CGG CTT AAG AAG ATC GGC TAC GAA GTC CTC GAC TGG GAC | | 3341 |
| Gly Tyr Val Arg Leu Lys Lys Ile Gly Tyr Glu Val Leu Asp Trp Asp | | |
| 1050 | 1055 | 1060 |
| TCA CTT AAG AAC TAC AGA AGG CTC TAC GAG GCG CTT GTC GAG AAC GTC | | 3389 |
| Ser Leu Lys Asn Tyr Arg Arg Leu Tyr Glu Ala Leu Val Glu Asn Val | | |
| 1065 | 1070 | 1075 |
| AGA TAC AAC GGC AAC AAG AGG GAG TAC CTC GTT GAA TTC AAT TCC ATC | | 3437 |
| Arg Tyr Asn Gly Asn Lys Arg Glu Tyr Leu Val Glu Phe Asn Ser Ile | | |
| 1080 | 1085 | 1090 |
| CGG GAT GCA GTT GGC ATA ATG CCC CTA AAA GAG CTG AAG GAG TGG AAG | | 3485 |
| Arg Asp Ala Val Gly Ile Met Pro Leu Lys Glu Leu Lys Glu Trp Lys | | |
| 1095 | 1100 | 1105 |
| ATC GGC ACG CTG AAC GGC TTC AGA ATG AGA AAG CTC ATT GAA GTG GAC | | 3533 |
| Ile Gly Thr Leu Asn Gly Phe Arg Met Arg Lys Leu Ile Glu Val Asp | | |
| 1115 | 1120 | 1125 |
| GAG TCG TTA GCA AAG CTC CTC GGC TAC TAC GTG AGC GAG GGC TAT GCA | | 3581 |
| Glu Ser Leu Ala Lys Leu Leu Gly Tyr Tyr Val Ser Glu Gly Tyr Ala | | |
| 1130 | 1135 | 1140 |
| AGA AAG CAG AGG AAT CCC AAA AAC GGC TGG AGC TAC AGC GTG AAG CTC | | 3629 |
| Arg Lys Gln Arg Asn Pro Lys Asn Gly Trp Ser Tyr Ser Val Lys Leu | | |
| 1145 | 1150 | 1155 |
| TAC AAC GAA GAC CCT GAA GTG CTG GAC GAT ATG GAG AGA CTC GCC AGC | | 3677 |
| Tyr Asn Glu Asp Pro Glu Val Leu Asp Asp Met Glu Arg Leu Ala Ser | | |
| 1160 | 1165 | 1170 |
| AGG TTT TTC GGG AAG GTG AGG CGG GGC AGG AAC TAC GTT GAG ATA CCG | | 3725 |
| Arg Phe Phe Gly Lys Val Arg Arg Gly Arg Asn Tyr Val Glu Ile Pro | | |
| 1175 | 1180 | 1185 |
| AAG AAG ATC GGC TAC CTG CTC TTT GAG AAC ATG TGC GGT GTC CTA GCG | | 3773 |
| Lys Lys Ile Gly Tyr Leu Leu Phe Glu Asn Met Cys Gly Val Leu Ala | | |
| 1195 | 1200 | 1205 |
| GAG AAC AAG AGG ATT CCC GAG TTC GTC TTC ACG TCC CCG AAA GGG GTT | | 3821 |
| Glu Asn Lys Arg Ile Pro Glu Phe Val Phe Thr Ser Pro Lys Gly Val | | |
| 1210 | 1215 | 1220 |
| CGG CTG GCC TTC CTT GAG GGG TAC TCA TCG GCG ATG GCG ACG TCC ACC | | 3869 |
| Arg Leu Ala Phe Leu Glu Gly Tyr Ser Ser Ala Met Ala Thr Ser Thr | | |
| 1225 | 1230 | 1235 |
| GAA CAA GAG ACT CAG GCT CTC AAC GAA AAG CGA GCT TTA GCG AAC CAG | | 3917 |
| Glu Gln Glu Thr Gln Ala Leu Asn Glu Lys Arg Ala Leu Ala Asn Gln | | |
| 1240 | 1245 | 1250 |
| CTC GTC CTC CTC TTG AAC TCG GTG GGG GTC TCT GCT GTA AAA CTT GGG | | 3965 |
| Leu Val Leu Leu Leu Asn Ser Val Gly Val Ser Ala Val Lys Leu Gly | | |
| 1255 | 1260 | 1265 |
| CAC GAC AGC GGC GTT TAC AGG GTC TAT ATA AAC GAG GAG CTC CCG TTC | | 4013 |
| His Asp Ser Gly Val Tyr Arg Val Tyr Ile Asn Glu Glu Leu Pro Phe | | |
| 1275 | 1280 | 1285 |
| GTA AAG CTG GAC AAG AAA AAG AAC GCC TAC TAC TCA CAC GTG ATC CCC | | 4061 |
| Val Lys Leu Asp Lys Lys Lys Asn Ala Tyr Tyr Ser His Val Ile Pro | | |
| 1290 | 1295 | 1300 |

| 19 | 20 |
|---|------|
| AAG GAA GTC CTG AGC GAG GTC TTT GGG AAG GTT TTC CAG AAA AAC GTC | 4109 |
| Lys Glu Val Leu Ser Glu Val Phe Gly Lys Val Phe Gln Lys Asn Val | |
| 1305 1310 1315 | |
| AGT CCT CAG ACC TTC AGG AAG ATG GTC GAG GAC GGA AGA CTC GAT CCC | 4157 |
| Ser Pro Gln Thr Phe Arg Lys Met Val Glu Asp Gly Arg Leu Asp Pro | |
| 1320 1325 1330 | |
| GAA AAG GCC CAG AGG CTC TCC TGG CTC ATT GAG GGG GAC GTA GTG CTC | 4205 |
| Glu Lys Ala Gln Arg Leu Ser Trp Leu Ile Glu Gly Asp Val Val Leu | |
| 1335 1340 1345 1350 | |
| GAC CGC GTT GAG TCC GTT GAT GTG GAA GAC TAC GAT GGT TAT GTC TAT | 4253 |
| Asp Arg Val Glu Ser Val Asp Val Glu Asp Tyr Asp Gly Tyr Val Tyr | |
| 1355 1360 1365 | |
| GAC CTG AGC GTC GAG GAC AAC GAG AAC TTC CTC GTT GGC TTT GGG TTG | 4301 |
| Asp Leu Ser Val Glu Asp Asn Glu Asn Phe Leu Val Gly Phe Gly Leu | |
| 1370 1375 1380 | |
| GTC TAT GCT CAC AAC AGC TAC TAC GGT TAC TAC GGC TAT GCA AGG GCG | 4349 |
| Val Tyr Ala His Asn Ser Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Gly Tyr Ala Arg Ala | |
| 1385 1390 1395 | |
| CGC TGG TAC TGC AAG GAG TGT GCA GAG AGC GTA ACG GCC TGG GGA AGG | 4397 |
| Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys Ala Glu Ser Val Thr Ala Trp Gly Arg | |
| 1400 1405 1410 | |
| GAG TAC ATA ACG ATG ACC ATC AAG GAG ATA GAG GAA AAG TAC GGC TTT | 4445 |
| Glu Tyr Ile Thr Met Thr Ile Lys Glu Ile Glu Glu Lys Tyr Gly Phe | |
| 1415 1420 1425 1430 | |
| AAG GTA ATC TAC AGC GAC ACC GAC GGA TTT TTT GCC ACA ATA CCT GGA | 4493 |
| Lys Val Ile Tyr Ser Asp Thr Asp Gly Phe Phe Ala Thr Ile Pro Gly | |
| 1435 1440 1445 | |
| GCC GAT GCT GAA ACC GTC AAA AAG AAG GCT ATG GAG TTC CTC AAC TAT | 4541 |
| Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys Lys Lys Ala Met Glu Phe Leu Asn Tyr | |
| 1450 1455 1460 | |
| ATC AAC GCC AAA CTT CCG GGC GCG CTT GAG CTC GAG TAC GAG GGC TTC | 4589 |
| Ile Asn Ala Lys Leu Pro Gly Ala Leu Glu Leu Glu Tyr Glu Gly Phe | |
| 1465 1470 1475 | |
| TAC AAA CGC GGC TTC TTC GTC ACG AAG AAG AAG TAT GCG GTG ATA GAC | 4637 |
| Tyr Lys Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys Lys Lys Tyr Ala Val Ile Asp | |
| 1480 1485 1490 | |
| GAG GAA GGC AAG ATA ACA ACG CGC GGA CTT GAG ATT GTG AGG CGT GAC | 4685 |
| Glu Glu Gly Lys Ile Thr Thr Arg Gly Leu Glu Ile Val Arg Arg Asp | |
| 1495 1500 1505 1510 | |
| TGG AGC GAG ATA GCG AAA GAG ACG CAG GCG AGG GTT CTT GAA GCT TTG | 4733 |
| Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln Ala Arg Val Leu Glu Ala Leu | |
| 1515 1520 1525 | |
| CTA AAG GAC GGT GAC GTC GAG AAG GCC GTG AGG ATA GTC AAA GAA GTT | 4781 |
| Leu Lys Asp Gly Asp Val Glu Lys Ala Val Arg Ile Val Lys Glu Val | |
| 1530 1535 1540 | |
| ACC GAA AAG CTG AGC AAG TAC GAG GTT CCG CCG GAG AAG CTG GTG ATC | 4829 |
| Thr Glu Lys Leu Ser Lys Tyr Glu Val Pro Pro Glu Lys Leu Val Ile | |
| 1545 1550 1555 | |
| CAC GAG CAG ATA ACG AGG GAT TTA AAG GAC TAC AAG GCA ACC GGT CCC | 4877 |
| His Glu Gln Ile Thr Arg Asp Leu Lys Asp Tyr Lys Ala Thr Gly Pro | |

| | | | |
|--|------|------|------|
| 21 | | | 22 |
| 1560 | 1565 | 1570 | |
| CAC GTT GCC GTT GCC AAG AGG TTG GCC GCG AGA GGA GTC AAA ATA CGC | | | 4925 |
| His Val Ala Val Ala Lys Arg Leu Ala Ala Arg Gly Val Lys Ile Arg | | | |
| 1575 | 1580 | 1585 | 1590 |
| CCT GGA ACG GTG ATA AGC TAC ATC GTG CTC AAG GGC TCT GGG AGG ATA | | | 4973 |
| Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr Ile Val Leu Lys Gly Ser Gly Arg Ile | | | |
| 1595 | 1600 | 1605 | |
| GGC GAC AGG GCG ATA CCG TTC GAC GAG TTC GAC CCG ACG AAG CAC AAG | | | 5021 |
| Gly Asp Arg Ala Ile Pro Phe Asp Glu Phe Asp Pro Thr Lys His Lys | | | |
| 1610 | 1615 | 1620 | |
| TAC GAC GCC GAG TAC TAC ATT GAG AAC CAG GTT CTC CCA GCC GTT GAG | | | 5069 |
| Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn Gln Val Leu Pro Ala Val Glu | | | |
| 1625 | 1630 | 1635 | |
| AGA ATT CTG AGA GCC TTC GGT TAC CGC AAG GAA GAC CTG CGC TAC CAG | | | 5117 |
| Arg Ile Leu Arg Ala Phe Gly Tyr Arg Lys Glu Asp Leu Arg Tyr Gln | | | |
| 1640 | 1645 | 1650 | |
| AAG ACG AGA CAG GTT GGT TTG AGT GCT TGG CTG AAG CCG AAG GGA ACT | | | 5165 |
| Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu Ser Ala Trp Leu Lys Pro Lys Gly Thr | | | |
| 1655 | 1660 | 1665 | 1670 |
| TGACCTTTCC ATTTGTTTT CAGCGATAA CCCTTTAACT TCCCTTTCAA AAATCCCT | | | 5225 |
| TAGGGAAAGA CCATGAAGAT AGAAATCCGG CGGCGCCCGG TTAAATACGC TAGGATAGA | | | 5285 |
| GTGAAGCCAG ACGGCAGGGT AGTCGTCAC TCCCCGAGGG TTCAACGTTG AGAAGTT | | | 5342 |

【 0 0 3 2 】 配列番号 2

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：774

配列の種類：タンパク質

配列の型：アミノ酸

配列

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| Met Ile Leu Asp Thr Asp Tyr Ile Thr Glu Asp Gly Lys Pro Val Ile | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Arg Ile Phe Lys Lys Glu Asn Gly Glu Phe Lys Ile Glu Tyr Asp Arg | | | |
| 20 | 25 | 30 | |
| Thr Phe Glu Pro Tyr Phe Tyr Ala Leu Leu Lys Asp Asp Ser Ala Ile | | | |
| 35 | 40 | 45 | |
| Glu Glu Val Lys Lys Ile Thr Ala Glu Arg His Gly Thr Val Val Thr | | | |
| 50 | 55 | 60 | |
| Val Lys Arg Val Glu Lys Val Gln Lys Lys Phe Leu Gly Arg Pro Val | | | |
| 65 | 70 | 75 | 80 |
| Glu Val Trp Lys Leu Tyr Phe Thr His Pro Gln Asp Val Pro Ala Ile | | | |
| 85 | 90 | 95 | |
| Arg Asp Lys Ile Arg Glu His Gly Ala Val Ile Asp Ile Tyr Glu Tyr | | | |
| 100 | 105 | 110 | |
| Asp Ile Pro Phe Ala Lys Arg Tyr Leu Ile Asp Lys Gly Leu Val Pro | | | |
| 115 | 120 | 125 | |
| Met Glu Gly Asp Glu Glu Leu Lys Met Leu Ala Phe Asp Ile Gln Thr | | | |
| 130 | 135 | 140 | |
| Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Ala Glu Gly Pro Ile Leu Met Ile | | | |
| 145 | 150 | 155 | 160 |
| Ser Tyr Ala Asp Glu Glu Gly Ala Arg Val Ile Thr Trp Lys Asn Val | | | |
| 165 | 170 | 175 | |
| Asp Leu Pro Tyr Val Asp Val Val Ser Thr Glu Arg Glu Met Ile Lys | | | |
| 180 | 185 | 190 | |

| | |
|---|-------------|
| 23 | 24 |
| Arg Phe Leu Arg Val Val Lys Glu Lys Asp Pro Asp Val Leu Ile Thr | |
| 195 | 200 205 |
| Tyr Asn Gly Asp Asn Phe Asp Phe Ala Tyr Leu Lys Lys Arg Cys Glu | |
| 210 | 215 220 |
| Lys Leu Gly Ile Asn Phe Ala Leu Gly Arg Asp Gly Ser Glu Pro Lys | |
| 225 | 230 235 240 |
| Ile Gln Arg Met Gly Asp Arg Phe Ala Val Glu Val Lys Gly Arg Ile | |
| 245 | 250 255 |
| His Phe Asp Leu Tyr Pro Val Ile Arg Arg Thr Ile Asn Leu Pro Thr | |
| 260 | 265 270 |
| Tyr Thr Leu Glu Ala Val Tyr Glu Ala Val Phe Gly Gln Pro Lys Glu | |
| 275 | 280 285 |
| Lys Val Tyr Ala Glu Glu Ile Thr Pro Ala Trp Glu Thr Gly Glu Asn | |
| 290 | 295 300 |
| Leu Glu Arg Val Ala Arg Tyr Ser Met Glu Asp Ala Lys Val Thr Tyr | |
| 305 | 310 315 320 |
| Glu Leu Gly Lys Glu Phe Leu Pro Met Glu Ala Gln Leu Ser Arg Leu | |
| 325 | 330 335 |
| Ile Gly Gln Ser Leu Trp Asp Val Ser Arg Ser Ser Thr Gly Asn Leu | |
| 340 | 345 350 |
| Val Glu Trp Phe Leu Leu Arg Lys Ala Tyr Glu Arg Asn Glu Leu Ala | |
| 355 | 360 365 |
| Pro Asn Lys Pro Asp Glu Lys Glu Leu Ala Arg Arg Arg Gln Ser Tyr | |
| 370 | 375 380 |
| Glu Gly Gly Tyr Val Lys Glu Pro Glu Arg Gly Leu Trp Glu Asn Ile | |
| 385 | 390 395 400 |
| Val Tyr Leu Asp Phe Arg Ser Leu Tyr Pro Ser Ile Ile Ile Thr His | |
| 405 | 410 415 |
| Asn Val Ser Pro Asp Thr Leu Asn Arg Glu Gly Cys Lys Glu Tyr Asp | |
| 420 | 425 430 |
| Val Ala Pro Gln Val Gly His Arg Phe Cys Lys Asp Phe Pro Gly Phe | |
| 435 | 440 445 |
| Ile Pro Ser Leu Leu Gly Asp Leu Leu Glu Glu Arg Gln Lys Ile Lys | |
| 450 | 455 460 |
| Lys Lys Met Lys Ala Thr Ile Asp Pro Ile Glu Arg Lys Leu Leu Asp | |
| 465 | 470 475 480 |
| Tyr Arg Gln Arg Ala Ile Lys Ile Leu Ala Asn Ser Tyr Tyr Gly Tyr | |
| 485 | 490 495 |
| Tyr Gly Tyr Ala Arg Ala Arg Trp Tyr Cys Lys Glu Cys Ala Glu Ser | |
| 500 | 505 510 |
| Val Thr Ala Trp Gly Arg Glu Tyr Ile Thr Met Thr Ile Lys Glu Ile | |
| 515 | 520 525 |
| Glu Glu Lys Tyr Gly Phe Lys Val Ile Tyr Ser Asp Thr Asp Gly Phe | |
| 530 | 535 540 |
| Phe Ala Thr Ile Pro Gly Ala Asp Ala Glu Thr Val Lys Lys Lys Ala | |
| 545 | 550 555 560 |
| Met Glu Phe Leu Asn Tyr Ile Asn Ala Lys Leu Pro Gly Ala Leu Glu | |
| 565 | 570 575 |
| Leu Glu Tyr Glu Gly Phe Tyr Lys Arg Gly Phe Phe Val Thr Lys Lys | |
| 580 | 585 590 |

25
 Lys Tyr Ala Val Ile Asp Glu Glu Gly Lys Ile Thr Thr Arg Gly Leu
 595 600 605
 Glu Ile Val Arg Arg Asp Trp Ser Glu Ile Ala Lys Glu Thr Gln Ala
 610 615 620
 Arg Val Leu Glu Ala Leu Leu Lys Asp Gly Asp Val Glu Lys Ala Val
 625 630 635 640
 Arg Ile Val Lys Glu Val Thr Glu Lys Leu Ser Lys Tyr Glu Val Pro
 645 650 655
 Pro Glu Lys Leu Val Ile His Glu Gln Ile Thr Arg Asp Leu Lys Asp
 660 665 670
 Tyr Lys Ala Thr Gly Pro His Val Ala Val Ala Lys Arg Leu Ala Ala
 675 680 685
 Arg Gly Val Lys Ile Arg Pro Gly Thr Val Ile Ser Tyr Ile Val Leu
 690 695 700
 Lys Gly Ser Gly Arg Ile Gly Asp Arg Ala Ile Pro Phe Asp Glu Phe
 705 710 715 720
 Asp Pro Thr Lys His Lys Tyr Asp Ala Glu Tyr Tyr Ile Glu Asn Gln
 725 730 735
 Val Leu Pro Ala Val Glu Arg Ile Leu Arg Ala Phe Gly Tyr Arg Lys
 740 745 750
 Glu Asp Leu Arg Tyr Gln Lys Thr Arg Gln Val Gly Leu Ser Ala Trp
 755 760 765
 Leu Lys Pro Lys Gly Thr
 770

【 0 0 3 3 】 配列番号 3

配列の長さ : 5342

配列の型 : 核酸 (DNA)

鎖の数 : 2 本鎖

トロポジ : 直鎖状

配列の種類 : cDNA

起源 : 超好熱始原菌

株名 : KOD 1

配列

GCTTGAGGGC CTGCGGTTAT GGGACGTTGC AGTTTGCGCC TACTCAAAGA TGCCGGTTTT 60
 ATAACGGAGA AAAATGGGGA GCTATTACGA TCTCTCCTTG ATGTGGGGTT TACAATAAAG 120
 CCTGGATTGT TCTACAAGAT TATGGGGGAT GAAAGATGAT CCTCGACACT GACTACATAA 180
 CCGAGGATGG AAAGCCTGTC ATAAGAATTT TCAAGAAGGA AAACGGCGAG TTAAAGATTG 240
 AGTACGACCG GACTTTTGAA CCCTACTTCT ACGCCCTCCT GAAGGACGAT TCTGCCATTG 300
 AGGAAGTCAA GAAGATAACC GCCGAGAGGC ACGGGACGGT TGTAACGGTT AAGCGGGTTG 360
 AAAAGGTTCA GAAGAAGTTC CTCGGGAGAC CAGTTGAGGT CTGAAACTC TACTTTACTC 420
 ATCCGCAGGA CGTCCCAGCG ATAAGGGACA AGATACGAGA GCATGGAGCA GTTATTGACA 480
 TCTACGAGTA CGACATACCC TTCGCCAAGC GCTACCTCAT AGACAAGGGA TTAGTGCCAA 540
 TGGAAGGCGA CGAGGAGCTG AAAATGCTCG CCTTCGACAT TCAAACCTC TACCATGAGG 600
 GCGAGGAGTT CGCCGAGGGG CCAATCCTTA TGATAAGCTA CGCCGACGAG GAAGGGGCCA 660
 GGGTGATAAC TTGGAAGAAC GTGGATCTCC CCTACGTTGA CGTCGTCTCG ACGGAGAGGG 720
 AGATGATAAA GCGCTTCCTC CGTGTGTTGA AGGAGAAAGA CCCGGACGTT CTCATAACCT 780
 ACAACGGCGA CAACTTCGAC TTCGCCTATC TGAAAAAGCG CTGTGAAAAG CTCGGAATAA 840
 ACTTCGCCCT CGGAAGGGAT GGAAGCGAGC CGAAGATTCA GAGGATGGGC GACAGGTTTG 900
 CCGTCGAAGT GAAGGGACGG ATACACTTCG ATCTCTATCC TGTGATAAGA CGGACGATAA 960
 ACCTGCCAC ATACACGCTT GAGGCCGTTT ATGAAGCCGT CTTGGTCAG CCGAAGGAGA 1020
 AGGTTTACGC TGAGGAAATA ACACCAGCCT GGGAAACCG CGAGAACCTT GAGAGAGTCG 1080
 CCCGCTACTC GATGGAAGAT GCGAAGGTCA CACACGAGCT TGGGAAGGAG TTCCTCCGA 1140
 TGGAGGCCCA GCTTCTCGC TTAATCGGCC AGTCCCTCTG GGACGTCTCC CGCTCCAGCA 1200
 CTGGCAACCT CGTTGAGTGG TTCCTCCTCA GGAAGGCCCT ATGAGAGGAA TGAGCTGGCC 1260

27

28

CCGAACAGC CCGATGAAAA GGAGCTGGCC AGAAGACGGC AGAGCTATGA AGGAGGCTAT 1320
 GTAAAAGAGC CCGAGAGAGG GTTGTGGGAG AACATAGTGT ACCTAGATT TAGATGCCAT 1380
 CCAGCCGATA CGAAGGTTGT CGTCAAGGGG AAGGGGATTA TAAACATCAG CGAGGTTGAG 1440
 GAAGGTGACT ATGTCCTTGG GATTGACGGC TGGCAGAGAG TTAGAAAAGT ATGGGAATAC 1500
 GACTACAAAG GGGAGCTTGT AAACATAAAC GGGTTAAAGT GTACGCCCAA TCATAAGCTT 1560
 CCCGTTGTGA CAAAGAACGA ACGACAAACG AGAATAAGAG ACAGTCTTGC TAAGTCTTTC 1620
 CTTACTAAAA AAGTTAAGGG CAAGATAATA ACCACTCCCC TTTCTATGA AATAGGCAGA, 1680
 GCGACAAGTG AGAATATTCC AGAAGAAGAG GTTCTCAAGG GAGAGCTCGC TGGCATAGTA, 1740
 TTGGCTGAAG GAACGCTCTT GAGGAAAGAC GTTGAATACT TTGATTATC CCGCAAAAAA 1800
 CGGAGGATTT CACACCAGTA TCGTGTGAG ATAACCATTG GGAAAGACGA GGAGGAGTTT 1860
 AGGGATCGTA TCACATACAT TTTTGAGCGT TTGTTTGGGA TTAATCCAAG CATCTCGGAG 1920
 AAGAAAGGAA CTAACGCAGT AACACTCAAA GTTGCAGAGA AGAATGTTTA TCTTAAAGTC 1980
 AAGGAAATTA TGGACAACAT AGAGTCCCTA CATGCCCCCT CGGTTCTCAG GGGATTCTTC 2040
 GAAGGCGACG GTTCAGTAAA CAGGTTAGGA GGAGTATTGT TGCAACCCAG GGTACAAAGA 2100
 ACGAGTGGA GATTAAACTG GTGTCAAAAC TGCTCTCCA GCTTGGTATC CCTCATCAAA 2160
 CGTACACGTA TCAGTATCAG GAAAATGGGA AAGATCGGAG CAGGTATATA CTGGAGATAA 2220
 CTGGAAGGA CGGATTGATA CTGTTCCAAA CACTCATTGG ATTATCAGT GAAAGAAAGA 2280
 ACGCTCTGCT TAATAAGGCA ATATCTCAGA GGGAAATGAA CAACTTGGAA AACAATGGAT 2340
 TTTACAGGCT CAGTGAATTC AATGTCAGCA CGGAATACTA TGAGGGCAAG GTCTATGACT 2400
 TAACTCTGA AGGAAGTCCC TACTTTGCCA ATGGCATATT GACCCATAAC TCCCTGTACC 2460
 CCTCAATCAT CATCACCCAC AACGTCTCGC CGGATACGCT CAACAGAGAA GGATGCAAGG 2520
 AATATGACGT TGCCCCACAG GTCGGCCACC GCTTCTGCAA GGACTTCCA GGATTTATCC 2580
 CGAGCCTGCT TGGAGACCTC CTAGAGGAGA GGCAGAAGAT AAAGAAGAAG ATGAAGGCCA 2640
 CGATTGACCC GATCGAGAGG AAGCTCCTCG ATTACAGGCA GAGGGCCATC AAGATCCTGG 2700
 CAAACAGCAT CCTACCCGAG GAATGGCTTC CAGTCTCGA GGAAGGGGAG GTTCACTTCG 2760
 TCAGGATTGG AGAGCTCATA GACCGGATGA TGGAGGAAAA TGCTGGGAAA GTAAAGAGAG 2820
 AGGGCGAGAC GGAAGTGCTT GAGGTCAGTG GGCTTGAAGT CCCGTCTTT AACAGGAGAA 2880
 CTAACAAGGC CGAGCTCAAG AGAGTAAAGG CCCTGATTAG GCACGATTAT TCTGGCAAGG 2940
 TCTACACCAT CAGACTGAAG TCGGGGAGGA GAATAAAGAT AACCTCTGGC CACAGCCTCT 3000
 TCTCTGTGAG AAACGGGAG CTCGTTGAAG TTACGGGCGA TGAATAAAG CCAGGTGACC 3060
 TCGTTGACGT CCCGCGGAGA TTGGAGCTTC CTGAGAGAAA CCACGTGCTG AACCTCGTTG 3120
 AACTGCTCCT TGAACGCCA GAAGAAGAAA CTTTGACAT CGTCATGACG ATCCCAGTCA 3180
 AGGGTAAGAA GAACTTCTTT AAAGGGATGC TCAGGACTTT GCGCTGGATT TTCGGAGAGG 3240
 AAAAGAGGCC CAGAACCGCG AGACGCTATC TCAGGCACCT TGAGGATCTG GGCTATGTCC 3300
 GGCTTAAGAA GATCGGCTAC GAACTCCTCG ACTGGGACTC ACTTAAGAAC TACAGAAGGC 3360
 TCTACGAGGC GCTTGTGAG AACGTCAGAT ACAACGGCAA CAAGAGGGAG TACCTCGTTG 3420
 AATTCAATTC CATCCGGGAT GCAGTTGGCA TAATGCCCT AAAAGAGCTG AAGGAGTGGA 3480
 AGATCGGCAC GCTGAACGGC TTCAGAATGA GAAAGCTCAT TGAAGTGAC GAGTCGTTAG 3540
 CAAAGCTCCT CGGCTACTAC GTGAGCGAGG GCTATGCAAG AAAGCAGAGG AATCCCCAAA 3600
 ACGGCTGGAG CTACAGCGTG AAGCTCTACA ACGAAGACCC TGAAGTGCTG GACGATATGG 3660
 AGAGACTCGC CAGCAGGTTT TTCGGGAAGG TGAGGCGGGG CAGGAACTAC GTTGAGATAC 3720
 CGAAGAAGAT CGGCTACCTG CTCTTTGAGA ACATGTGCGG TGCTCTAGCG GAGAACAAGA 3780
 GGATCCCCGA GTTCGTCTTC ACGTCCCCGA AAGGGGTTCC, GCTGGCCTTC CTTGAGGGGT 3840
 ACTCATCGGC GATGGCGACG TCCACCGAAC AAGAGACTCA GGCTCTCAAC GAAAAGCGAG 3900
 CTTTAGCGAA CCAGCTCGTC CTCCTCTTGA ACTCGGTGGG GGTCTCTGCT GTAAACTTGG 3960
 GGCACGACAG CGGCGTTTAC AGGTCTATA TAAACGAGGA GCTCCCGTTC GTAAAGCTGG 4020
 ACAAGAAAAA GAACGCCTAC TACTCACACG TGATCCCCAA GGAAGTCTG AGCGAGGTCT 4080
 TTGGGAAGGT TTTCCAGAAA AACGTCAGTC CTCAGACCTT CAGGAAGATG GTCGAGGACG 4140
 GAAGACTCGA TCCCAGAAAG GCCCAGAGGC TCTCCTGGCT CATTGAGGGG GACGTAGTGC 4200
 TCGACCGCGT TGAGTCCGTT GATGTGGAAG ACTACGATGG TTATGTCTAT GACCTGAGCG 4260

29

30

TCGAGGACAA CGAGAACTTC CTCGTTGGCT TTGGGTTGGT CTATGCTCAC AACAGCTACT 4320
 ACGGTTACTA CGGCTATGCA AGGGCGCGCT GGTACTGCAA GGAGTGTGCA GAGAGCGTAA 4380
 CGGCCTGGGG AAGGGAGTAC ATAACGATGA CCATCAAGGA GATAGAGGAA AAGTACGGCT 4440
 TTAAGGTAAT CTACAGCGAC ACCGACGGAT TTTTGGCCAC AATACCTGGA GCCGATGCTG 4500
 AAACCGTCAA AAAGAAGGCT ATGGAGTTCC TCAACTATAT CAACGCCAAA CTCCGGGCG 4560
 CGCTTGAGCT CGAGTACGAG GGCTTCTACA AACGCGGCTT CTTCTCACG AAGAAGAAGT 4620
 ATGCGGTGAT AGACGAGGAA GGCAAGATAA CAACGCGCGG ACTTGAGATT GTGAGGCGTG 4680
 ACTGGAGCGA GATAGCGAAA GAGACGCAGG CGAGGGTTCT TGAAGCTTTG CTAAAGGACG 4740
 GTGACGTCGA GAAGGCCGTG AGGATAGTCA AAGAAGTTAC CGAAAAGCTG AGCAAGTACG 4800
 AGGTTCCGCC GGAGAAGCTG GTGATCCACG AGCAGATAAC GAGGGATTTA AAGGACTACA 4860
 AGGCAACCGG TCCCCACGTT GCCGTTGCCA AGAGGTTGGC CGCGAGAGGA GTCAAAATAC 4920
 GCCCTGGAAC GGTGATAAGC TACATCGTGC TCAAGGGCTC TGGGAGGATA GCGGACAGGG 4980
 CGATACCGTT CGACGAGTTC GACCCGACGA AGCACAAGTA CGATGCCGAG TACTACATTG 5040
 AGAACCAGGT TCTCCCAGCC GTTGAGAGAA TTCTGAGAGC CTTGCGTTAC CGCAAGGAAG 5100
 ACCTGCGCTA CCAGAAGACG AGACAGGTTG GTTTGAGTGC TTGGCTGAAG CCGAAGGGAA 5160
 CTTGACCTTT CCATTGTTT TCCAGCGGAT AACCTTTAA CTTCCCTTTC AAAAATCCC 5220
 TTTAGGGAAA GACCATGAAG ATAGAAATCC GCGGCGCCCC GGTAAATAC GCTAGGATAG 5280
 AAGTGAAGCC AGACGCGCAG GTAGTCGTCA CTGCCCCGAG GGTCAACGT TGAGAAGTT 5339

【 0 0 3 4 】 配列番号 4

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：24

20 配列の種類：合成DNA

配列の型：核酸

配列

GGATTAGTGC CAATGGAAGG CGAC

24

【 0 0 3 5 】 配列番号 5

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：24

配列の種類：合成DNA

配列の型：核酸

配列

GAGGGCGAAG TTTATTCCGA GCTT

24

【 0 0 3 6 】 配列番号 6

鎖の数：2本鎖

配列の長さ：324

30 トポロジー：直鎖状

配列の型：核酸 (DNA)

配列の種類：cDNA

配列

GGATTAGTGC CAATGGAAGG CGACGAGGAG CTGAAAATGC TCGCCTTCGA CATTCAAAC 60
 CTCTACCATG AGGGCGAGGA GTTCGCCGAG GGGCCAATCC TTATGATAAG CTACGCCGAC 120
 GAGGAAGGGG CCAGGGTGAT AACTTGAAG AACGTGGATC TCCCTACGT TGACGTCGTC 180
 TCGACGGAGA GGGAGATGAT AAAGCGCTTC CTCCGTGTTG TGAAGGAGAA AGACCCGGAC 240
 GTTCTCATAA CCTACAACGG CGACAACTTC GACTTCGCCT ATCTGAAAAA GCGCTGTGAA 300
 AAGCTCGGAA TAACTTCGC CTC 324

【 0 0 3 7 】 配列番号 7

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：108

40 配列の種類：タンパク質

配列の型：アミノ酸

配列

Gly Leu Val Pro Met Glu Gly Asp Glu Glu Leu Lys Met Leu Ala Phe
 1 5 10 15
 Asp Ile Gln Thr Leu Tyr His Glu Gly Glu Glu Phe Ala Glu Gly Pro
 20 25 30
 Ile Leu Met Ile Ser Tyr Ala Asp Glu Glu Gly Ala Arg Val Ile Thr
 35 40 45
 Trp Lys Asn Val Asp Leu Pro Tyr Val Asp Val Val Ser Thr Glu Arg
 50 55 60

31
 Glu Met Ile Lys Arg Phe Leu Arg Val Val Lys Glu Lys Asp Pro Asp
 65 70 75 80
 Val Leu Ile Thr Tyr Asn Gly Asp Asn Phe Asp Phe Ala Tyr Leu Lys
 85 90 95
 Lys Arg Cys Glu Lys Leu Gly Ile Asn Phe Ala Leu
 100 105

【 0 0 3 8 】 配列番号 8

鎖の数：1本鎖

配列の長さ：42

配列の種類：合成DNA

配列の型：核酸 (DNA)

配列

GCCATCAAGA TCCTGGCAAA CAGCTACTAC GGTACTACG GC 42

【 0 0 3 9 】 配列番号 9

鎖の数：1本鎖

配列の長さ：32

配列の種類：合成DNA

配列の型：核酸 (DNA)

配列

GATGGATCCA ACTTCTCAAC GTTGAACCCT CG 32

【 0 0 4 0 】 配列番号 1 0

鎖の数：1本鎖

配列の長さ：46

配列の種類：合成DNA

配列の型：核酸 (DNA)

配列

GAACATAGTG TACCTAGATT TTAGATCCCT GTACCCCTCA ATCATC 46

【 0 0 4 1 】 配列番号 1 1

鎖の数：1本鎖

配列の長さ：42

配列の種類：合成DNA

配列の型：核酸 (DNA)

配列

GCCGTAGTAA CCGTAGTAGC TGTTGCCAG GATCTTGATG GC 42

【 0 0 4 2 】 配列番号 1 2

鎖の数：1本鎖

配列の長さ：33

配列の種類：合成DNA

配列の型：核酸 (DNA)

配列

ATCGATATCC TCGACACTGA CTACATAACC GAG 33

【 0 0 4 3 】 配列番号 1 3

鎖の数：1本鎖

配列の長さ：46

配列の種類：合成DNA

配列の型：核酸 (DNA)

配列

GATGATTGAG GGTACAGGG ATCTAAAATC TAGGTACACT ATGTTC 46

【図面の簡単な説明】

【図 4】 超好熱始原菌 KOD 1 由来の DNA ポリメラーゼ遺伝子と類縁菌と思われる *Pyrococcus furiosus* 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼ遺伝子および *Thermococcus litoralis* 由来の耐熱性 DNA ポリメラーゼ遺伝子との比較を示す。

【図 1】 組換え発現ベクターの構築図を示す。

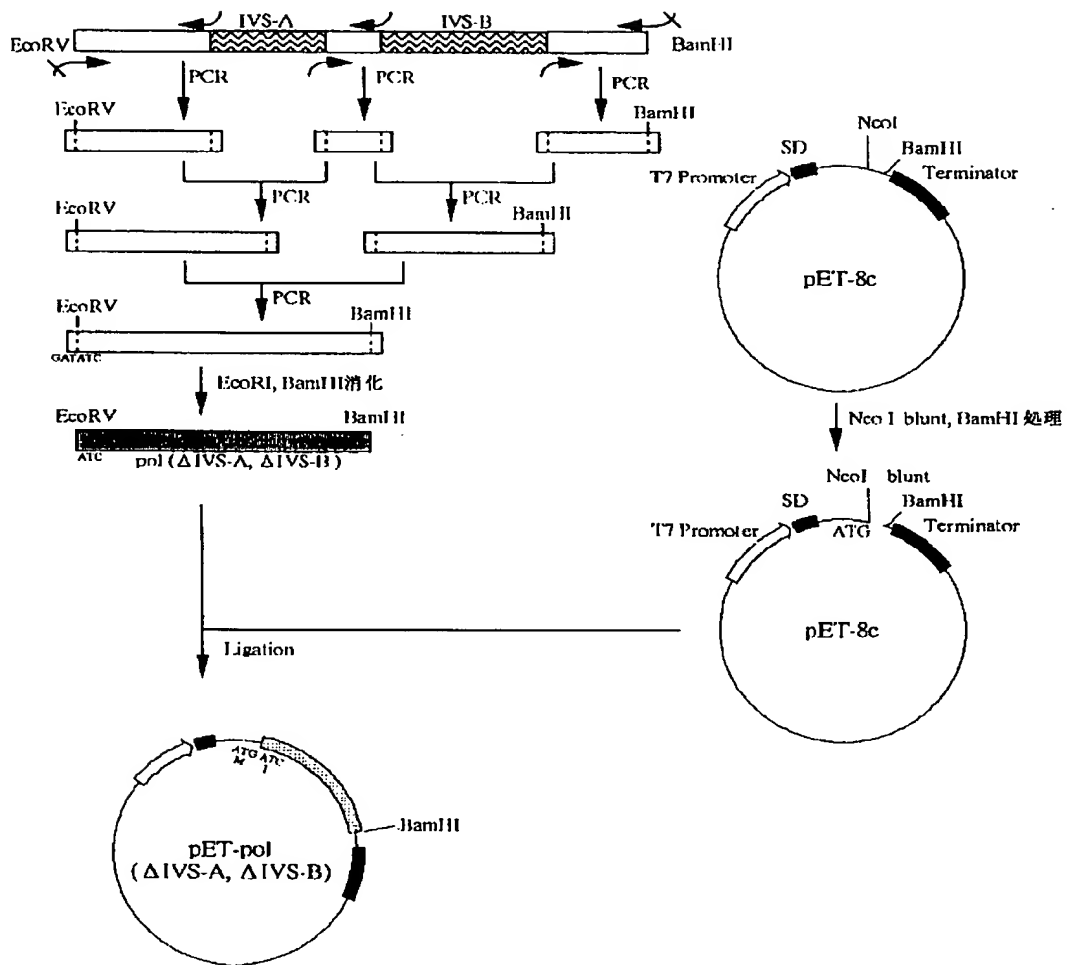
【図 2】 KOD 1 由来耐熱性 DNA ポリメラーゼ分子
 量測定結果を示す電気泳動の写真である。

40

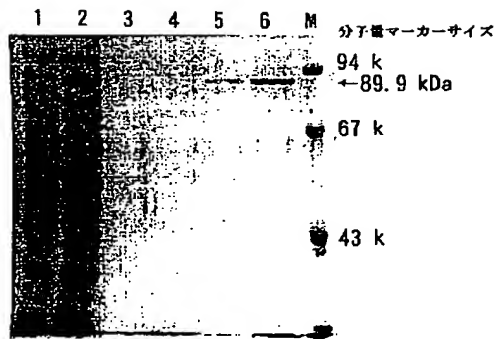
【図 3】 KOD 1 由来耐熱性 DNA ポリメラーゼによる PCR の結果を示す電気泳動の写真である。

【図 1】

発現組換えベクター (pET-pol) の構築



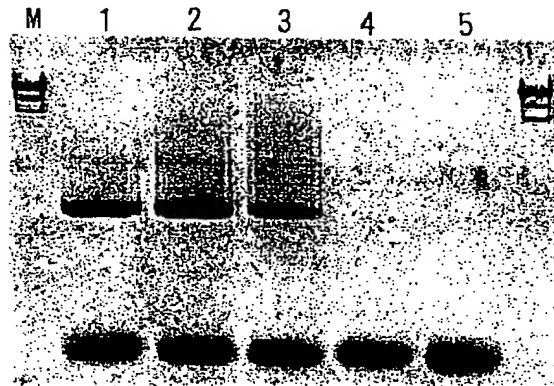
【図 2】



- 1: pET-8c 沈殿
 2: pET-pol(Δ IVS-A, Δ IVS-B) 沈殿
 3: pET-8c 上澄み
 4: pET-8c 上澄み x5
 5: pET-pol(Δ IVS-A, Δ IVS-B) 上澄み
 6: pET-pol(Δ IVS-A, Δ IVS-B) 上澄み x5

組換え菌が生産する超好熱始原菌KOD1株由来
 DNAポリメラーゼの分子量測定
 (SDS-PAGE法)

【図 3】

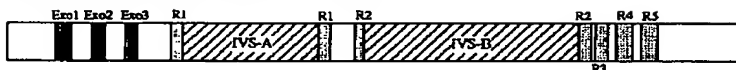


- 1: Vent ポリメラーゼ (Thermococcus litoralis 由来)
 2: pET-pol(Δ IVS-A, Δ IVS-B) 上澄み
 3: pET-pol(Δ IVS-A, Δ IVS-B) 上澄み x 5
 4: pET-8c 上澄み
 5: pET-8c 上澄み x 5

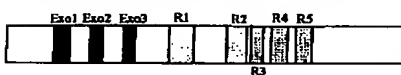
組換え菌が生産する超好熱始原菌KOD1株由来
 DNAポリメラーゼを用いたPCR(Polymerase
 Chain Reaction)により増幅されたDNA断片

【図 4】

超好熱始原菌KOD1株のDNAポリメラーゼ遺伝子



Pyrococcus furiosus のDNAポリメラーゼ遺伝子 (Pfu DNA polymerase)



Thermococcus litoralis のDNAポリメラーゼ遺伝子 (Vent DNA polymerase)



超好熱始原菌KOD1株のDNAポリメラーゼ遺伝子と他の好熱性菌の
 DNAポリメラーゼ遺伝子の比較

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

C 1 2 R 1:19

(C 1 2 N 1/21

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

C 1 2 R 1:19)